

TOKSISITAS *Lygodium microphyllum*, *Premna serratifolia* L. DAN *Vitex pinnata* ASAL DESA KUALA MANDOR B

Siti Hasanah^{1*}, M. Agus Wibowo¹, Nora Idiawati¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak

*e-mail: siti.h2811@gmail.com

ABSTRAK

Buas-buas (*Premna serratifolia* L.), leban (*Vitex pinnata*) dan ribu-ribu (*Lygodium microphyllum*) merupakan tumbuhan yang berpotensi sebagai tumbuhan obat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam sampel tersebut dan potensi ekstrak air daun buas-buas, leban dan ribu-ribu yang memiliki aktivitas toksisitas. Penelitian ini dilakukan dalam empat tahapan yaitu ekstraksi dengan metode infusa, skrining fitokimia, uji toksisitas. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak air daun buas-buas dan leban mengandung golongan senyawa alkaloid, polifenol/ tanin, flavonoid dan saponin. Sedangkan daun ribu-ribu mengandung golongan senyawa alkaloid, polifenol/ tannin dan flavonoid. Pada uji toksisitas diperoleh nilai LC_{50} ekstrak air daun buas-buas, leban dan ribu-ribu berturut-turut adalah 1114,352 ppm; 829,430 ppm; 2082,394 ppm. Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak yang bersifat toksik adalah ekstrak air daun leban.

Kata Kunci: Buas-buas (*Premna serratifolia* L.), leban (*Vitex pinnata*), ribu-ribu (*Lygodium microphyllum*), infusa, toksisitas

PENDAHULUAN

Pengetahuan masyarakat Indonesia tentang penggunaan obat tradisional dari tumbuhan merupakan salah satu bentuk kearifan lokal yang telah diwariskan secara turun-temurun. Salah satunya masyarakat dari Kalimantan Barat tepatnya di Desa Kuala Mandor B (kab. Kubu Raya). Tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional diantaranya buas-buas (*Premna serratifolia* L.), leban (*Vitex pinnata*) dan ribu-ribu. Buas-buas merupakan salah satu jenis tumbuhan semak. Bagian daun dari tumbuhan ini dapat dikonsumsi sebagai lalapan dan obat tradisional. Penelitian Lestari *et al.* (2014), Oktaviani *et al.* (2015) dan Karmakar *et al.* (2011) membuktikan bahwa adanya aktivitas antimalaria, antioksidan, analgesik dan antibakteri pada daun buas-buas.

Leban merupakan tumbuhan yang termasuk dalam family Verbenaceae. Habitatnya berada di hutan atau di tepi sungai. Masyarakat menggunakan daunnya untuk mengobati disentri dan sakit pinggang. Marliana *et al.* (2010) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun leban

mengandung metabolit sekunder golongan alkaloid, fenol, saponin, dan terpenoid/steroid. Wardenaar *et al.* (2011) juga menyatakan adanya kandungan senyawa turunan stilben pada akar leban. Penelitian ekstrak etil asetat daun leban menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dengan EC_{50} $136,26 \pm 2,05 \mu\text{g/ml}$ dan bersifat nontoksik (Marliana *et al.*, 2010).

Ribu-ribu merupakan tumbuhan invasif yang tumbuh di wilayah Afrika, Australia dan Asia (Zheng *et al.*, 2006). Masyarakat memanfaatkan rebusan daun dan akar ribu-ribu sebagai obat demam, nyeri otot, kanker dan disentri (Neamsuan *et al.*, 2011). Selain itu, tumbuhan ini juga dapat mengatasi penyakit kulit (Kumari *et al.*, 2011) dan perut kembung. Gracelin *et al.* (2012) menyatakan adanya kandungan senyawa golongan steroid, gula tereduksi, fenol dan flavonoid pada ekstrak metanol *L. microphyllum* dan berpotensi sebagai anti bakteri.

Berdasarkan data empirik yang telah diuraikan, mengacu kepada masyarakat yang mengkonsumsi obat tradisional. Maka

perlu dilakukan penelitian tentang ekstrak air dari ketiga tumbuhan ini yaitu tumbuhan buas-buas (*Premna serratifolia* L.), leban (*Vitex pinnata*) dan ribu-ribu (*Lygodium microphyllum*). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang serta golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam sampel dan aktivitas toksisitas ekstrak air daun buas-buas, leban dan ribu-ribu.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah ayakan, batang pengaduk, blender, botol semprot, botol vial, bulb, gelas beaker, kaca arloji, labu ukur, mikropipet, neraca analitik, oven, panci infusa, pipet ukur, petri disk, pipet tetes, peralatan penetasan larva *Artemia salina* Leach, plastik *wrapping*, spatula, tabung reaksi dan rak tabung reaksi.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air laut, akuades, asam klorida, daun buas-buas (*Premna serratifolia* L.), daun leban (*Vitex pinnata*), daun ribu-ribu (*Lygodium microphyllum*), Dimetil Sulfoksida (DMSO), pereaksi Dragendroff, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, serbuk magnesium dan tween.

Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan adalah *Lygodium microphyllum* (ribu-ribu), *Premna serratifolia* L. (buas-buas) dan *Vitex pinnata* (leban). Sampel diperoleh dari Desa Kuala Mandor B, Kabupaten Kubu Raya, Kalimantan Barat. Sampel dibersihkan dan dikering anginkan pada suhu ruang. Setelah kering, daun dihaluskan hingga berbentuk serbuk. Sampel tersebut disimpan dalam tempat tertutup. Keakuratan spesies daun buas dideterminasi di Herbarium Bogoriense LIPI Bogor.

Ekstraksi

Pembuatan ekstrak sampel dilakukan dengan metode infusa. Sebanyak 100 gram serbuk sampel ditambahkan akuades sebanyak 1000 ml, kemudian dipanaskan sambil diaduk. Apabila suhu ekstrak sampel sudah mencapai 90 °C, diamkan hingga mencapai 15 menit. Setelah itu, ekstrak sampel disaring menggunakan kain flannel (Depkes, 1995). Ekstrak hasil infusa dipisahkan dengan *rotary evaporator*

kemudian dikeringkankan menggunakan freeze drying hingga diperoleh ekstrak kering. Ekstrak yang diperoleh digunakan untuk uji toksisitas dan uji aktivitas antiinflamasi. Rendemen ekstrak dihitung dengan rumus (Sari, 2010):

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{massa ekstrak kering sampel}}{\text{massa serbuk sampel}} \times 100\%$$

Skrining Fitokimia (Harborne, 1987)

Skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak air daun buas-buas dan daun leban untuk mengidentifikasi golongan senyawa alkaloid, triterpenoid/ steroid, polifenol/ tannin, flavonoid dan saponin. Berikut adalah metode yang digunakan:

Uji Alkaloid. Sejumlah larutan ekstrak ditambahkan 3 tetes H₂SO₄ 2N kemudian dipanaskan. Selanjutnya diuji dengan reagen Dragendroff, Mayer dan Wagner. Hasil uji positif diperoleh bila terbentuk endapan merah hingga jingga pada penambahan reagen Dragendroff dan endapan putih kekuningan pada penambahan reagen Mayer. Serta terbentuk endapan kecoklatan pada penambahan reagen Wagner.

Uji Triterpenoid/ Steroid. Larutan ekstrak sebanyak 1 ml ditambahkan pereaksi Lieberman-Burchard. Hasil uji positif diperoleh bila terbentuk endapan hijau (mengandung steroid) atau terbentuk endapan merah (mengandung triterpenoid).

Uji Polifenol/ Tanin. Larutan ekstrak sebanyak 2 ml ditambahkan dua tetes pereaksi FeCl₃ 1%. Terbentuknya warna hijau atau biru menunjukkan adanya senyawa fenol.

Uji Flavonoid. Larutan ekstrak sebanyak 2 mL ditambah dengan sedikit serbuk Mg dan 2 mL HCl 2N. Senyawa flavonoid akan menimbulkan warna jingga sampai merah.

Uji Saponin. Larutan ekstrak ditambahkan akuades dan dikocok kuat-kuat. Adanya senyawa saponin ditandai dengan terbentuknya busa 1-10 cm yang stabil dan tidak kurang dari 10 menit.

Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Air laut sebanyak 1 L dimasukkan ke dalam wadah yang dibagi menjadi dua bagian dan dibatasi dengan sekat yang telah diberi lubang. Salah satu bagian ditutup dengan aluminium foil, sedangkan bagian yang lain dibiarkan terbuka (bagian

atasnya diberi lampu). Telur *Artemia salina* dimasukkan kedalam bagian tertutup. Dalam waktu 48 jam, telur akan menetas menjadi larva (nauplis) dan siap digunakan untuk penelitian (Erma *et al.*, 2004).

Ditimbang ekstrak kasar sebanyak 0,5 g dan dilarutkan dengan air laut buatan hingga volumenya mencapai 250 mL, untuk membuat konsentrasi sampel 2000 ppm. Konsentrasi sampel 2000 ppm diencerkan menjadi 1000 ppm; 100 ppm; 10 ppm; 0 ppm. Apabila ekstrak sampel sukar larut dalam air laut, dapat ditambahkan DMSO 1% sebanyak tiga tetes.

Masing-masing larutan sampel dengan konsentrasi masing-masing 10 ppm; 100 ppm; 1000 ppm dimasukkan ke dalam botol vial, kemudian ditambah 5 ml air laut yang berisi 10 ekor nauplis. Satu botol vial digunakan sebagai kontrol (5 ml air laut dan 10 ekor nauplis). Perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali ulangan. Jumlah nauplis yang mati dihitung setelah 24 jam dan dianalisa untuk menentukan nilai LC₅₀. Selanjutnya dihitung persen kematian larva uji setelah 24 jam perlakuan menggunakan rumus (McLaughlin, 1998):

$$\% \text{ kematian} = \frac{\text{jumlah larva yang mati}}{\text{jumlah larva uji}} \times 100 \%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun buas-buas (*Premna serratifolia* L.), daun leban (*Vitex pinnata*) dan daun ribu-ribu (*Lygodium microphyllum*) yang diperoleh dari Desa Kuala Mandor, Kabupaten Kubu Raya, Kalimantan Barat. Ketiga jenis tumbuhan ini dimanfaatkan masyarakat setempat sebagai bahan makanan dan tumbuhan obat. Preparasi sampel melalui serangkaian tahapan berikut yaitu pengumpulan, pencucian, pengeringan, dan penghalusan sampel hingga menjadi serbuk.

Ekstraksi adalah suatu teknik pemisahan zat atau komponen aktif dari suatu sampel menggunakan pelarut tertentu (Harborne, 1987). Ekstraksi sampel daun buas-buas, daun leban dan daun ribu-ribu dilakukan dengan metode infusa. Infusa adalah salah satu jenis ekstraksi panas untuk menyari senyawa aktif menggunakan pelarut air pada temperatur 90-95°C selama

15 menit (Depkes, 1995). Metode infusa dipilih menyesuaikan dengan kebiasaan masyarakat yang mengkonsumsi obat tradisional, sehingga penelitian ini dapat dijadikan bukti ilmiah dalam penggunaannya pada masyarakat. Pemilihan air sebagai pelarut dikarenakan murah, mudah diperoleh, tidak mudah menguap dan tidak beracun.

Ekstrak air yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk skrining fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam sampel. Akan tetapi, untuk uji toksisitas dan uji aktivitas antiinflamasi ekstrak perlu dikeringkan dengan metode *freeze drying*.

Tabel 1. Rendemen Ekstrak Air Sampel

Sampel	Massa Serbuk sampel (gr)	Massa Ekstrak kering sampel (gr)	Rendemen (%)
Buas-Buas	100	3,7561	3,7561
Leban	100	2,4278	2,4278
Ribu-Ribu	100	4,1398	4,1398

Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia pada tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak air daun buas-buas dan daun leban positif mengandung golongan senyawa alkaloid, polifenol/ tanin, flavonoid dan saponin. Ekstrak air daun ribu-ribu mengandung golongan senyawa alkaloid, polifenol/ tannin dan flavonoid.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Air Sampel

Golongan Senyawa	Buas-Buas	Leban	Ribu-Ribu
Alkaloid	Dragendorff	-	-
	Mayer	++	+++
	Wagner	-	-
Triterpenoid	-	-	-
Steroid	-	-	-
Polifenol/ Tanin	++	++	++
Flavonoid	++	++	+
Saponin	+++	++	-

Keterangan :

- = reaksi tidak ada
- + = reaksi dalam jumlah sedikit
- ++ = reaksi dalam jumlah sedang
- +++ = reaksi dalam jumlah tinggi

UJI TOKSISITAS DENGAN METODE BSLT Preparasi Hewan Uji

Air laut dimasukkan ke dalam wadah yang telah dibagi menjadi dua bagian, yaitu sebagian ditutup dan bagian lainnya dibiarkan terbuka (diletakkan lampu neon). Pemasangan lampu ini bertujuan untuk memberikan cahaya yang dapat merangsang proses penetasan telur *A. salina*. Selanjutnya telur *A. salina* dimasukkan ke wadah pada bagian yang tertutup. Setelah 48 jam telur akan menetas membentuk nauplii dan bergerak ke bagian yang terkena cahaya. Naupli adalah hewan uji yang digunakan untuk uji toksisitas.

Uji Toksisitas

Pada penelitian ini dilakukan uji toksisitas dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Metode ini merupakan suatu uji untuk mengetahui tingkat toksisitas yang dimiliki oleh ekstrak daun buah-buas dan leban menggunakan larva/ nauplii *A. salina*. Keuntungan dari metode ini adalah cepat, murah, sederhana (tidak memerlukan peralatan khusus) dan membutuhkan sampel yang relatif sedikit dalam pengujian (McLaughlin *et al.*, 1998). Tingkat toksisitas ekstrak sampel ditinjau dari kematian larva/ nauplii *A. salina* yang diuji pada variasi konsentrasi 0, 10, 100 dan 1000 ppm selama 24 jam. Konsentrasi 0 ppm adalah kontrol negatif berupa air laut dan larva *A. salina* tanpa penambahan ekstrak sampel. Pembuatan variasi konsentrasi tersebut dilakukan dengan melarutkan ekstrak sampel dan air laut serta penambahan 3 tetes DMSO (Dimetil Sulfoksida) untuk ekstrak yang sukar larut.

Hasil uji mortalitas larva *A. salina* yang diperoleh dari masing-masing ekstrak daun buah-buas dan leban kemudian dilakukan analisis probit dengan program SPSS (*Statistical Program for Social Sciences*) for Windows Version 20 sehingga diperoleh nilai LC_{50} . Nilai LC_{50} menunjukkan besarnya konsentrasi suatu bahan uji yang dapat menyebabkan 50% kematian jumlah hewan uji. Hasil pengamatan terhadap kematian larva *A. salina* pada variasi konsentrasi ekstrak sampel dapat dilihat pada tabel 3.

Nilai LC_{50} merupakan parameter yang berperan dalam aktivitas toksisitas. Hasil pengamatan pada tabel 3. menunjukkan ekstrak daun leban memiliki nilai LC_{50} paling kecil yaitu 829,430 ppm. Selanjutnya diikuti

nilai LC_{50} pada ekstrak daun buah-buas dan daun ribu-ribu dengan nilai LC_{50} masing-masing adalah 1114,352 ppm dan 2082,394 ppm. Mayer (1982) menyatakan ekstrak bersifat toksik apabila nilai $LC_{50} < 1000$ ppm dan bersifat tidak toksik apabila nilai $LC_{50} > 1000$ ppm. Dari pernyataan tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun leban bersifat toksik sedangkan ekstrak daun buah-buas bersifat tidak toksik.

Tabel 3. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Air Sampel

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Kematian (%)	LC_{50} (ppm)
Buas-Buas	0	0	1114,352
	10	0	
	100	3,33	
	1000	46,67	
Leban	0	0	829,430
	10	10	
	100	13,33	
	1000	56,67	
Ribu-Ribu	0	0	2082,394
	10	6,67	
	100	13,33	
	1000	43,33	

Potensi toksisitas yang dimiliki oleh ekstrak daun leban berkaitan dengan senyawa yang terkandung dalam ekstrak tersebut yaitu alkaloid, polifenol/ tannin, flavonoid dan saponin. Menurut (Ruwaida, 2010), pada kadar tertentu senyawa-senyawa ini bersifat toksik sehingga dapat menghambat daya makan (*antifeedant*) dan terjadi kematian pada larva *A. salina*. Senyawa tersebut masuk ke dalam saluran pencernaan dan didistribusikan ke dalam jaringan tubuh larva *A. salina* sehingga terjadi kerusakan fungsional dan metabolisme sel. Proses tersebut terjadi hanya dalam waktu 24 jam yang menyebabkan terjadinya kematian larva *A. salina* sebanyak 50%.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak air daun buah-buas, daun leban adalah alkaloid, polifenol/ tannin, flavonoid dan saponin. Senyawa pada ekstrak air daun ribu-ribu adalah alkaloid, polifenol/ tannin, flavonoid.

2. Ekstrak daun leban bersifat toksik dengan nilai LC_{50} sebesar 829,430 ppm. Sedangkan ekstrak daun buas-buas dan ekstrak daun ribu-ribu bersifat tidak toksik dengan nilai LC_{50} masing-masing sebesar 1114,352 ppm dan 2082,394 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995, "Farmakope Indonesia", Edisi IV, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Erma, N.N.S., Sundari, T., Susanty, A.I., Octavia, D.R., Isnaeni dan Sukardiman, 2004, "Kajian Pendahuluan Uji Toksisitas Ekstrak Air Miselia dan Tubuh Buah Jamur Shittake (*Lentinus edodes*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)", *Berkala Peneitian. Hayati*, 10: 13-18.
- Gracelin, D.H.S., Britto, A.J.D dan Kumar, P.B.J.R., 2012, "Antibacterial Screening of A Few Medicinal Fernst Against Antibiotic Resistant Phyto Pathogen", *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(3): 868-873.
- Harborne, J.B., 1987, "Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan", (alih bahasa), K. Padmawinata dan I. Soediro, Penerbit ITB, Bandung.
- Karmakar, U.K., Pramanik, S., Sadhu, S.K., Shill, M.C dan Biswas, S.K., 2011, "Assesment of Analgesic and Antibacterial Activity of *Premna integrifolia* Linn. (Family: Verbenaceae) Leaves", *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(6): 1430-1435.
- Kumari, P., Otagvari, A.M., Govindaparyi, H., Bahuguna, Y.M dan Uniyal, P.L., 2011, "Some Ethno-medicinally Important Pteridophytes of India", *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 1(1): 18-22.
- Lestari, M.A., Mukarlina dan Yanti, A.H., 2014, "Uji Aktivitas Ekstrak Metanol dan n-Heksan Daun Buas-Buas (*Premna serratifolia* Linn.) pada Larva Nyamuk Demam Berdarah (*Aedes aegypti* Linn.)", *Protobiont*, 3(2): 247-251.
- Marliana, E, Pasaribu, M dan Ismail, S, 2010, "Bioaktivitas Fraksi Daun *Vitex pinnata*". *Jurnal Kimia Mulawarman*, 7(2): 51-54.
- Mayer B.N., Ferrigni N.R., Putnam J.E., Jacobsen L.B., Nichols D.E and McLaughlin J.L., 1982, "Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents", *Planta Medica*, 45: 31-34.
- McLaughlin, J.L., Rogers, L.L dan Anderson, J.E., 1998, "The Use of Biological assays to Evaluate Botanicals", *Drug Information Journal*, 32: 513-524.
- Neamsuvan, O., Singdam, P., Yingcharoen, K dan Sengnon, N., 2011, "A Survey of Medicinal Plants in Mangrove and Beach Forests from Phra Peninsula, Songkhla Province, Thailand", *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(12): 2421-2437.
- Oktaviani, E., Wibowo, M.A dan Idiawati, N, 2015, "Penapisan Fraksi Antioksidan Daun Buas-Buas (*Premna serratifolia* Linn)", *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 4(3): 40-47.
- Ruwaida, D.G., 2010, "Uji Toksisitas Senyawa Hasil Isolasi Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST)". Universitas Sebelas Maret, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Surakarta, (skripsi).
- Sari, G.P., 2010, "Uji Efek Analgetik dan Antiinflamasi Ekstrak Kering Air Gambir secara *in vitro*", UIN Syarif Hidayatullah, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Jakarta, (Skripsi).
- Wardenaar, E., Jayuska, A dan Yanti, H, 2011, "Karakterisasi Senyawa Cicerfuran dari Fraksi Etil Asetat Ekstrak Akar Kayu Laban (*Vitex pubescens* Vahl)", *Jurnal Tengawang*, 1(1).
- Zheng, H, Wu, Y dan Ding, J, 2006, "Invasive Plants Established in the United States that are Found in Asia and Their Associated Natural Enemies", Ed ke-2, *Forest Health Technology Enterprise Team*, 2: 18-19.